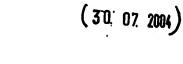
BEST AVAILABLE COPY BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PCT/EP200 4 / 0 5 1 6 0 6





Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:

103 34 145.5

RECEIVED

14 SEP 2004

WIPO

Anmeldetag:

26. Juli 2003

PCT

Anmelder/Inhaber:

Leica Microsystems Heidelberg GmbH,

68165 Mannheim/DE

Bezeichnung:

Rastermikroskop

PRIORITY DOCUMENT

IPC:

G 02 B, G 01 N, G 01 J

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 18. März 2004

Deutsches Patent- und Markenamt

Der Präsident

الر السر Auftrag

Stanschus

A 9161 06/00 EDV-L

5

10

15

20

25

Rastermikroskop

Die Erfindung betrifft ein Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungsstrahlengang definiert und mit einem Spektraldetektor zum Detektieren des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes, der einen Detektionsstrahlengang definiert und der ein spektral aufspaltendes Bauteil beinhaltet.

In der Rastermikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten. Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkippung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.

Speziell in der konfokalen Rastermikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende - fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlablenkeinrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine

10

15

20

25

30

Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird oft über den Strahlteiler, der beispielsweise als Neutralstrahlteiler oder als dichroitischer Strahlteiler ausgeführt sein kann, eingekoppelt. Neutralstrahlteiler haben den Nachteil, dass je nach Teilungsverhältnis viel Anregungs- oder viel Detektionslicht verloren geht.

Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlablenkeinrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden, hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt, wobei die Bahn des Abtastlichtstrahles auf bzw. in dem Objekt idealerweise einen Mäander beschreibt. (Abtasten einer Zeile in x-Richtung bei konstanter y-Position, anschließend x-Abtastung anhalten und per y-Verstellung auf die nächste abzutastende Zeile schwenken und dann, bei konstanter y-Position, diese Zeile in negative x-Richtung abtasten u.s.w.). Um eine schichtweise Bilddatennahme zu ermöglichen, wird der Probentisch oder das Objektiv nach dem Abtasten einer Schicht verschoben und so die nächste abzutastende Schicht in die Fokusebene des Objektivs gebracht.

vielen Anwendungen werden Proben mit mehreren Markern, beispielsweise mehreren unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen präpariert. beispielsweise sequentiell, Diese Farbstoffe können Anregungswellenlängen unterschiedliche Beleuchtungslichtstrahlen, die aufweisen, angeregt werden. Auch eine simultane Anregung mit einem Licht mehrerer Anregungswellenlängen Beleuchtungslichtstrahl, der beinhaltet, ist üblich. Aus der Europäischen Patentanmeldung EP 0 495 930: "Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz" ist beispielsweise eine Anordnung mit einem einzelnen mehrere Laserlinien emittierenden Laser

10

15

20

25

30

bekannt. Derzeit sind in der Praxis solche Laser meist als Mischgaslaser, insbesondere als ArKr-Laser, ausgebildet.

Zur simultanen Detektion des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes werden oft Multibanddetektoren eingesetzt. Aus der Offenlegungsschrift DE 4330347 A1 ist eine Vorrichtung zur Selektion und Detektion mindestens zweier Spektralbereiche eines Lichtstrahls, mit einer Selektionseinrichtung und einer Detektionseinrichtung bekannt. Die Vorrichtung ist zur zuverlässigen gleichzeitigen Selektion und Detektion unterschiedlicher Spektralbereiche bei hoher Ausbeute und bei einfachster Konstruktion derart ausgestaltet, dass die Selektionseinrichtung Bauteil zur spektralen Aufspaltung des Lichtstrahls beispielsweise ein Prisma oder ein Gitter - und Mittel einerseits zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs und die Detektionseinrichtung einen im Strahlengang des ausgeblendeten ersten Spektralbereichs angeordneten ersten Detektor und einen im Strahlengang des reflektierten Spektralbereichs angeordneten zweiten Detektor umfasst. Als Mittel zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs ist vorzugsweise eine Spaltblendenvorrichtung mit verspiegelten Blendenbacken vorgesehen. Die Vorrichtung ist insbesondere als Multibanddetektor in einem Rastermikroskop einsetzbar.

Aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 198 42 288 A1 ist eine Vorrichtung zur einstellbaren Einkopplung und/oder Detektion einer oder mehrerer Wellenlängen in einem Mikroskop bekannt. Die Vorrichtung besteht aus mindestens einem displersiven Element zur Wellenlängenseperation des Beleuchtungslichts sowie mindestens einem im wellenlängenseparierten Teil des Beleuchtungslichts angeordneten, zumindest teilweise reflextiven Element zur Rückreflexion mindestens eines Wellenlängenbereichs in Richtung der Mikroskopbeleuchtung. Außerdem sind zur einstellbaren Detektion im wellenlängenseparierten Teil des Objektlichtes Mittel zur einstellbaren Ausblendung mindestens eines Wellenlängenbereichs und Mittel zur Ablenkung des ausgeblendeten Wellenlängenbereichs in Richtung

10

15

20

25

30

mindestens eines Detektors vorgesehen. Nicht zuletzt aufgrund der Variabilität in Bezug auf die auszublendenden Wellenlängenbereiche ist die Vorrichtung apparativ sehr aufwendig und kompliziert.

Aus der Patentschrift DE 195 10 102 C1 ist ein halbkonfokales Fluoreszenzmikroskop bekannt, bei der das Beleuchtungslicht einer Lichtquelle mit Hilfe einer Spektrometeranordnung spektral zerlegt und über eine Wellenlängenselektionsblende und eine weitere Spektrometeranordnung zur streifenförmigen Beleuchtung auf eine Probe gelenkt wird. Das von der Probe ausgehende Detektionslicht wird von der weiteren Spektrometeranordnung spektral zerlegt und über die Wellenlängenselektionsblende und eine dritte Spektrometeranordnung nach Passieren einer Streifenlochblende einer Detektoranordnung zugeführt. Die Wellenlängenselektionsblende ist zur Einstellung der jeweiligen Wellenlängenbereiche verschiebbar angeordnet. Die Anordnung insbesondere dadurch, dass zumindest drei Spektrometeranordnungen notwendig sind, konstruktiv aufwendig und schwer zu justieren.

Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Rastermikroskop anzugeben, das bei einfacher Bauweise sowohl die Einkopplung von Beleuchtungslicht vorzugsweise mehrerer Wellenlängen, als auch die Detektion von Detektionslicht in mehreren Wellenlängenbereichen gestattet.

Diese Aufgabe wird durch ein Rastermikroskop gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass das spektral aufspaltende Bauteil den Beleuchtungsund den Detektionsstrahlengang trennt.

Die Erfindung hat den Vorteil, dass ein in vielen Gerätetypen vorhandenes Bauteil, nämlich das Bauteil zur spektralen Aufspaltung des Detektionslichtes, gelichzeitig zur Einkopplung des Beleuchtungslichtes verwendet wird, wodurch die Verwendung von weiteren teuren, den Strahlengang verkomplizierenden Bauteilen weitgehend vermieden ist. Vorteilhafterweise übernimmt bei dem erfindungsgemäßen Rastermikroskop das spektral aufspaltende Bauteil die Funktion des Hauptstrahlteilers, nämlich die Separation von Beleuchtungsstrahlengang und Detektionsstrahlengang, wobei

20

25

30

die bei Hauptstrahlteilern auf der Basis von Neutralstrahlteilern auftretenden Probleme, nämlich die enormen Verluste an Lichtleistung, nicht auftreten.

In einer besonderen Ausgestaltungsform ist das spektral aufspaltende Bauteil als Gitter ausgebildet, das einerseits das Beleuchtungslicht empfängt und zur Probe weiterleitet und andererseits das von der Probe ausgehende Licht durch Beugung spektral aufspaltet und den Detektoren zuführt.

In einer bevorzugten Ausgestaltung des Rastermikroskops ist das spektral aufspaltende Bauteil als Prisma ausgebildet.

Vorzugsweise ist eine Grenzfläche des Prismas zumindest teilweise reflektierend beschichtet. In einer besonderen Ausgestaltungsform durchläuft das Detektionslicht zur spektralen Aufspaltung das Prisma und wird dabei intern an den reflektierend beschichteten Teilen der Grenzfläche reflektiert. Neben bzw. zwischen den reflektierend beschichteten Teilen der Grenzfläche ist keine oder vorzugsweise eine Antireflexbeschichtung vorgesehen, durch die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird.

In einer anderen Variante trifft das Beleuchtungslicht auf die reflektierend beschichteten Teile der Grenzfläche und das Detektionslicht auf die nicht bzw. antireflexbeschichteten Teile der Grenzfläche.

In einer bevorzugten Ausgestaltungsform sind die reflektierend beschichteten Teile der Grenzfläche und die nicht reflektierend beschichteten Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet. Erfindungsgemäß wird hierbei die Tatsache ausgenutzt, dass aufgrund der Stokes-Shift bei fluoreszierenden Proben die Beleuchtungslichtwellenlänge gegen die Detektionslicht-Wellenlänge spektral verschoben ist, beispielsweise durch Verschieben des Prismas entlang der Grenzfläche und senkrecht zur Aufspaltungsrichtung des Detektionslichts wird eine Einstellbarkeit der Beleuchtungs/Detektionswellenlängenbereiche ermöglicht.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltungsform ist zur Erzielung einer besonders stabilen und kompakten einfachen Bauweise das spektral aufspaltende Bauteil ortsfest angeordnet, wodurch die Anzahl und die Wellenlänge der zu verwendeten Beleuchtungslinien zwar unveränderbar

10

15

20

25

30

festgelegt ist, was jedoch für die Mehrzahl der mikroskopischen Anwendungen absolut ausreicht.

Durch Verschieben des bzw. der Beleuchtungslichtstrahlen relativ zu den beschichteten bzw. nicht beschichteten Teilen der Grenzflächen, kann auf einfache Weise eine Leistungsregulierung vorgenommen werden. Hierbei wird der bzw. werden die Beleuchtungslichtstrahlen seitlich beschnitten.

Vorzugsweise sind die Teile der Grenzfläche, über die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird, ca. 100 µm breit. Vorzugsweise ist das Verhältnis der Breiten der Teile der Grenzfläche, über die das Detektionslicht zu den Detektoren gelangt zu den Teilen der Grenzfläche, über die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird, möglichst groß, um möglichst kleine Lücken im Detektionsspektrum zu haben.

In einer anderen besonders bevorzugten Ausführungsvariante wird entweder das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht total intern reflektiert. Bei dieser Variante ist keine reflektierende Beschichtung nötig. Vorzugsweise ist hierfür die Grenzfläche des Prismas gestuft oder sägezahnförmig strukturiert, so dass beispielsweise das Detektionslicht unter einem Winkel auf die Grenzfläche trifft, der eine total interne Reflektion hervorruft, während das Beleuchtungslicht unter einem Winkel auftrifft, der eine Transmission erlaubt. Selbstverständlich ist es auch möglich, dass umgekehrt das Beleuchtungslicht total intern reflektiert wird, während das Detektionslicht transmittiert wird.

In einer anderen Variante trägt die Grenzfläche Stege aus einem Material, das einen anderen Brechungsindex als das Prisma aufweist. Hierdurch wird auf einfache Weise eine Konfiguration erzeugt, bei der Bereiche der Grenzfläche mit total interner Reflektion und nicht total interner Reflektion nebeneinander angeordnet sind.

In einer bevorzugen Ausgestaltung beinhaltet das Beleuchtungslicht beispielsweise drei ausgewählte Laserlinien (z.B. 488nm, 560nm und 633nm, oder irgendeine andere Kombination, die vorzugsweise fest vorgegeben ist). Diese werden durch die beschichtete Grenzfläche im passenden Winkel in das Prisma eingekoppelt und somit kollinear zum Detektionsstrahlengang. Der

Beleuchtungslichtstrahlengang verläuft dann in umgekehrter Richtung, passiert das Beleuchtungs- und Detektionspinhole (die in dieser Variante identisch sind), gelangt zur Strahlablenkeinheit und wird über Tubus- und Scanlinse durch das Objektiv auf die Probe gelenkt.

- Es können auch Beleuchtungslicht von vier Laserlinien oder mehr verwendet werden, was beispielsweise bei Rastermikroskopen auf der Basis von Strahlteilern nicht möglich ist, da es zur Zeit keine multichroitischen Strahlteiler gibt, mit denen man Beleuchtungslicht von vier Laserlinien oder mehr gleichzeitig ein Mikroskop einkoppeln kann.
- Vorteilhafter Weise ist erfindungsgemäß auch zusätzlich die Einkopplung von Beleuchtungslicht mit einer Wellenlänge von 532 nm ermöglicht, was mit herkömmlichen Strahlteilern ebenfalls nicht realisierbar ist, da die 532 nm Linie zu dicht zwischen den Ar-Linien ist.
 - aufgespaltenen die räumliche Breite des Vorzugsweise beträgt Detektionslichtes an der Grenzfläche ca. 1 cm bei einer spektralen Breite von nicht -100µm breite entspricht. Durch antireflexbeschichtete Einkoppeschlitze werden folglich jeweils nur 4nm würden dem Detektionsspektrum herausgeschnitten, was für die meisten reflektiertes ist. Außerdem gelangt Anwendungen akzeptabel Beleuchtungslicht über dieselbe Grenzfläche zum Laser zurück und wird somit vorteilhafter Weise aus dem Detektionsstrahlengang ausgekoppelt.
 - Denkbar ist auch die Verwendung anderer Prismen oder anderer Prismentypen, bei dem die räumlich spektrale Aufspaltung an der Grenzfläche größer ist, so dass das Beleuchtungslicht nicht so stark auf die nicht reflektierenden Teile, nämlich die Einkoppelschlitze, der Grenzfläche fokussiert werden müssen.
 - In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltung ist das Rastermikroskop als konfokales Rastermikroskop ausgebildet.
- In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Bauteile mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

15

20

. 25

Fig. 1 Ein erfindungsgemäße Rastermikroskop,

Fig. 2 eine Detailansicht eines erfindungsgemäßen

Rastermikroskops,

Fig. 3 eine Detailansicht eines spektral aufspaltenden Bauteils

5 und

10

15

20

25

30

Fig. 4 eine Detailansicht eines weiteren spektral aufspaltenden Bauteils.

Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Rastermikroskop mit einer ersten Lichtquelle 1, die einen ersten Beleuchtungslichtstrahl 3, der eine Wellenlänge von 488 nm aufweist, erzeugt und mit einer zweiten Lichtquelle 5, die einen zweiten Beleuchtungslichtstrahl 7, der eine Wellenlänge von 560 nm aufweist. erzeugt und mit einer dritten Lichtquelle 9, die einen dritten Beleuchtungslichtstrahl 11, der eine Wellenlänge von 633 nm aufweißt, erzeugt. Die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 (gestrichelt dargestellt) treffen auf die teilweise beschichtete Grenzfläche 13 des spektral aufspaltenden Bauteils 15, das als Prisma 17 ausgeführt ist. Die Grenzfläche 13 des Prismas 17 weist reflektierende und nicht reflektierende Bereiche auf. Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 treffen zwischen den reflektierenden Bereichen auf nicht reflektierende Bereiche, so dass die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7, 11 in das Prisma transmittiert werden und nach dem Austreten durch eine andere Grenzfläche des Prismas und nach Passieren der Feldlinse 19 durch die Lochblende 21 kollinear vereinigt zu der Strahlablenkeinrichtung 23, die einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 25 beinhaltet, gelangt. Die Strahlablenkeinrichtung 23 führt die kollinear vereinigten Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7, 11 durch die Scanlinse 27 und die Tubuslinse 29 sowie durch das Objektiv 31 durch bzw. über die Probe 33. Das von der Probe ausgehende Detektionslicht 35 gelangt auf dem selben Lichtweg, nämlich durch das Objektiv 31, die Tubuslinse 29, die Scanlinse 27 und über die Strahlablenkeinrichtung 23 zurück zur Lochblende 21, passiert diese und wird nach Durchlaufen der Feldlinse 19 von dem Prisma 17 räumlich spektral aufgespalten. Beim Durchlaufen des Prismas 17 wird das Detektionslicht an der Grenzfläche 13 von den reflektierend beschichteten Teilen intern reflektiert und tritt räumlich spektral aufgspalten durch eine dritte Grenzfläche aus dem Prisma 17 aus, um zu den nicht gezeigten Detektoren zu gelangen.

5 Fig. 2 zeigt eine Detailansicht des erfindungsgemäßen Rastermikroskops, das in Fig. 1 dargestellt ist. Die Grenzfläche 13 des Prismas weist reflektierende Bereiche 37, an denen das Detektionslicht intern reflektiert wird, und antireflexbeschichtete Bereiche 39, durch die die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 eingekoppelt werden, auf. Die Lochblende 21 dient in dieser Konfiguration sowohl als Beleuchtungs- als auch als Detektionslochblende.

Fig. 3 zeigt eine Detailansicht des spektral aufspaltenden Bauteils 15 in Seitenansicht und in Ansicht auf die beschichtete Grenzfläche 13. Abwechselnd finden sich auf der Grenzfläche 13 reflektierende Bereiche 37 und nicht reflektierende Bereiche, die antireflexbeschichtet sind 39. Die Breite der nicht reflektierenden Bereiche 39 ist im Verhältnis zur Breite der reflektierenden Bereiche übertrieben groß dargestellt. Um große Lücken im Detektionsspektrum zu vermeiden, beträgt die Breite der nicht reflektierenden Bereiche nur Bruchteile von mm, während die Breite der reflektierenden Bereiche im Bereich von Bruchteilen von Zentimetern liegt.

Fig. 4 zeigt eine Detailansicht eines weiteren spektral aufspaltenden Bauteils, dass ebenfalls als Prisma ausgeführt ist. Die Grenzfläche 13 weist eine Sägezahnstruktur 41 auf. Bei dieser Variante wird das Detektionslicht total intern reflektiert, während das Beleuchtungslicht die Grenzfläche 13 an den Stellen passiert, an denen der Grenzwinkel der Totalreflexion aufgrund der Sägezahnstruktur nicht vorliegt.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

15

Bezugszeichenliste:

	1	erste Lichtquelle
	3	erster Beleuchtungslichtstrahl
5	5	zweite Lichtquelle
	7	zweiter Beleuchtungslichtstrahl
	9 .	dritte Lichtquelle
	11	dritter Beleuchtungslichtstrahl
	13	Grenzfläche
10	15	spektral aufspaltendes Bauteil
	17	Prisma
	19	Feldlinse
	21	Lochblende
	23	Strahlablenkeinrichtung
15	25	Scanspiegel
	27	Scanlinse
	29	Tubuslinse
	31	Objektiv
	. 33	Probe
20	35 .	Detektionslicht
	37	reflektierende Bereiche
	39	antireflexbeschichtete Bereiche
	41	Sägezahnstruktur

<u>Patentansprüche</u>

- 1. Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungsstrahlengang definiert und mit einem Spektraldetektor zum Detektieren des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes, der einen Detektionsstrahlengang definiert und der ein spektral aufspaltendes Bauteil beinhaltet, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil den Beleuchtungs- und den Detektionsstrahlengang trennt.
- 2. Rastermikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil ein Gitter beinhaltet.
- 10 3. Rastermikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil ein Prisma beinhaltet.
 - 4. Rastermikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche des Prisma zumindest teilweise reflektierend beschichtet ist.
- Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 oder 4, dadurch
 gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht intern reflektiert.
 - 6. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Beleuchtungslicht oder das Detektionslicht transmittiert.
- 7. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Detektionslicht auf reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft und dass das Beleuchtungslicht auf nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft.
- 8. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslicht auf reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft und dass das Detektionslicht auf nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft.

- 9. Rastermikroskop nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche eine Antireflexbeschichtung aufweisen.
- 10. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche und nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet sind.
 - 11. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche dichroitisch beschichtet ist.
- 10 12. Rastermikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche des Prismas gestuft oder sägezahnförmig strukturiert ist.
 - 13. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht total intern reflektiert.
- 14. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass sich total intern reflektierende Teile der Grenzfläche und nicht total intern reflektierende Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet sind.
- 15. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch
 20 gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche Stege aus einem Material trägt, das einen anderen Brechungsindex als das Prisma aufweist.
 - 16. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Rastermikroskop ein konfokales Rastermikroskop ist.

Zusammenfassung

Ein Rastermikroskop mit einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungsstrahlengang definiert und mit einem Spektraldetektor zum Detektieren des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes, der einen Detektionsstrahlengang definiert und der ein spektral aufspaltendes Bauteil beinhaltet, ist offenbart. Das Rastermikroskop ist dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil den Beleuchtungs- und den Detektionsstrahlengang trennt.

Fig. 1

5

